

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 428 870**

51 Int. Cl.:

**A23L 1/227** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.03.2006 E 06729851 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2013 EP 1867241**

54 Título: **Condimento que presenta la función de conferir cuerpo**

30 Prioridad:

**25.03.2005 JP 2005087485**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**12.11.2013**

73 Titular/es:

**AJINOMOTO CO., INC. (100.0%)  
15-1, Kyobashi 1-chome, Chuo-ku  
Tokyo 104-8315, JP**

72 Inventor/es:

**HAYASHI, KAZUHIRO;  
KOJIMA, MARI;  
YAMANAKA, TOMOHIKO;  
KAWAGUCHI, HIROKAZU;  
TAMURA, HIROSHI y  
MIYAMURA, NAOHIRO**

74 Agente/Representante:

**CURELL AGUILÁ, Mireia**

**ES 2 428 870 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Condimento que presenta la función de conferir cuerpo.

**5 Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un glucopéptido que tiene un efecto de dar sabor kokumi, y más especialmente se refiere a un condimento caracterizado por el hecho de que comprende este glucopéptido como principio activo, y a un alimento o bebida caracterizado por el hecho de que está condimentado con dicho condimento.

10 El condimento de la presente invención tiene un excelente sabor kokumi, en particular un sabor kokumi de una primera degustación y de una degustación intermedia, y por lo tanto un sabor kokumi de una primera degustación y de una degustación intermedia de un alimento o bebida aliñada con este condimento también mejora. En otras palabras, puede decirse que la presente invención se refiere a un procedimiento para mejorar un sabor kokumi de un alimento o bebida. En este contexto, el sabor kokumi de una primera degustación se refiere a un sabor kokumi percibido dentro de 2 segundos desde el momento en que un alimento se pone en la boca, y el sabor kokumi de una degustación intermedia se refiere a un sabor kokumi percibido entre 2 a 4 segundos de la misma y el sabor kokumi de un regusto se refiere a un sabor kokumi percibido después de 4 segundos del mismo.

**20 Técnica anterior**

El sabor kokumi se refiere a un sabor que no puede ser expresado por los cinco sabores básicos (sabor dulce, sabor salado, sabor ácido, sabor amargo y sabor umami) e incluye no sólo los sabores básicos de lo espeso, untuoso, la continuidad, la unidad y similar, sino que también incluye un sabor obtenido mediante la mejora de los sabores en torno o periférico a los sabores básicos. Hasta ahora, se han descrito algunos procedimientos para conferir un sabor kokumi, y un procedimiento en el que se añade glutatión (Patente japonesa nº 1464928), un procedimiento en el que se añade un glucopéptido (documento WO 2004/096836) y similares se conocen.

30 Sin embargo, en estos procedimientos convencionales de conferir un sabor kokumi, se puede conferir un sabor kokumi que se centra en un regusto, pero no pudo obtenerse un efecto de conferir un sabor kokumi de un primer sabor y un sabor intermedio en una medida deseada. Por otra parte, como condimento que da un sabor kokumi de un primer sabor y de un sabor intermedio, puede ponerse como ejemplo un hidrolizado de proteínas y similares. Sin embargo, existen problemas de que un sabor diferente o un sabor no deseado también se dé debido a las impurezas y similares.

**35 Sumario de la invención**

[Problemas que la invención debe resolver]

40 Con los antecedentes de la técnica anterior descritos en el apartado anterior, un objetivo de la presente invención consiste en proporcionar un condimento que pueda ser utilizado más ampliamente en alimentos y bebidas y tiene un fuerte efecto de mejorar los sabores de los alimentos y bebidas, siendo con ello capaz de conferir un sabor kokumi, en particular, un sabor kokumi de un primer sabor y de un sabor intermedio.

45 [Medios para resolver los problemas]

Se realizaron estudios exhaustivos para conseguir el objetivo descrito en el apartado anterior, y como consecuencia, se descubrió un glucopéptido que tiene un excelente efecto de conferir un sabor kokumi de un primer sabor y de un sabor intermedio a un alimento o bebida. En adelante, el descubrimiento se describirá con detalle.

50 Para confirmar el cuerpo principal que tiene un efecto de conferir un sabor kokumi de un primer sabor y de un sabor intermedio, se realizó el seguimiento y la confirmación utilizando condimentos que tienen un efecto muy fuerte de conferir un sabor kokumi de un primer sabor y de un sabor intermedio cuando se añade a un alimento o bebida junto con el criterio basado en la evaluación organoléptica.

55 En primer lugar, con respecto a la selección de una materia prima de partida, se avanzó la confirmación utilizando como materia prima de partida, un condimento que tiene un efecto muy fuerte de conferir un sabor kokumi de un primer sabor y de un sabor intermedio cuando se añade a un alimento o bebida incluso en una pequeña cantidad. Más específicamente, se seleccionó como materia prima de partida un condimento obtenido por hidrólisis de una materia prima que contiene proteína de trigo mediante un moho de koji.

60 Como resultado de los estudios exhaustivos, se descubrió que una fracción relacionada con conferir un sabor kokumi de un primer sabor y de un sabor intermedio del condimento mencionado anteriormente es una fracción que tiene un peso molecular de 1.000 a 30.000. Es decir, se confirmó que la fracción que tiene un peso molecular de 1.000 a 30.000 del condimento mencionado anteriormente tiene una función de conferir un sabor kokumi de un primer sabor y de un sabor intermedio por varios análisis y de someterse a evaluación organoléptica. Además, se

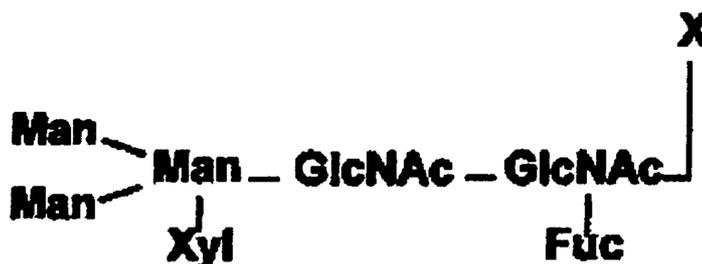
descubrió que para conferir un sabor kokumi de un primer sabor y de un sabor intermedio es necesario que un glucopéptido que tiene un peso molecular de 1.000 a 30.000 y además se componga de una cadena de azúcar y contiene un péptido unido uno al otro, y por lo tanto la presente invención se ha completado sobre la base de estos descubrimientos.

5 La presente invención proporciona lo que sigue a continuación.

[1] Un condimento que tiene una función de conferir un sabor kokumi, caracterizado por el hecho de que comprende como principio activo, un glucopéptido que se compone de una cadena de azúcar y un péptido unidos entre sí,

10 en el que el glucopéptido presenta una estructura representada por la fórmula de secuencia (I) siguiente y tiene un peso molecular entre 3.000 y 30.000:

Fórmula de secuencia (I)



15 en la que Man representa un resto de manosa, Xyl representa un resto de xilosa, GlcNAc representa un resto de N-acetilglucosamina, Fuc representa un resto de fucosa, y X representa un resto de péptido.

20 [2] El condimento que tiene una función de conferir un sabor kokumi según el punto [1] anterior, caracterizado por el hecho de que el glucopéptido está en forma de un hidrolizado de una proteína vegetal por un moho koji.

25 [3] El condimento que tiene una función de conferir un sabor kokumi según los puntos [1] y [2] anteriores, caracterizado por el hecho de que el glucopéptido está en forma de un hidrolizado de gluten de trigo o soja desgrasada por una enzima.

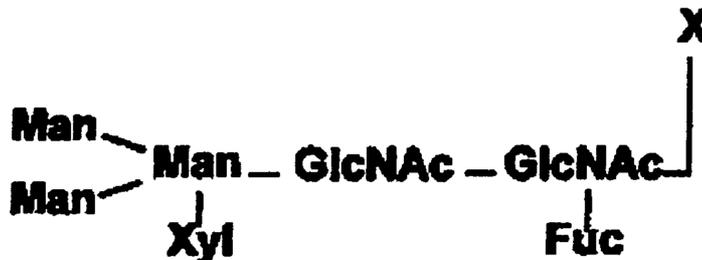
[4] Una comida o bebida, caracterizada por estar aliñada con el condimento según cualquiera de los puntos [1] a [3] anteriores.

30 **Mejor modo de poner en práctica la invención**

En adelante, se describirá con detalle la presente invención.

35 En primer lugar, el glucopéptido utilizado en la presente memoria presenta una estructura representada por la fórmula de secuencia (I). Además el péptido no está limitado con respecto al tipo de aminoácido constituyente siempre que esté compuesto de dos o más aminoácidos unidos entre sí. Sin embargo, en el caso en que está compuesto de 5 o más restos de aminoácidos, el efecto de mejorar un sabor aumenta especialmente.

Fórmula de secuencia (I)



40 en la fórmula, Man representa un resto de manosa, Xyl representa un resto de xilosa, GlcNAc representa un resto de N-acetilglucosamina, Fuc representa un resto de fucosa, y X representa un resto de péptido.

45 También es posible sintetizar el glucopéptido de la presente invención, sin embargo, en general, puede utilizarse un glucopéptido obtenido al hidrolizar una materia prima que contiene una proteína vegetal tal como una proteína de trigo o una proteína de soja mediante un moho koji o una enzima (proteasa o similar) y sometiendo el hidrolizado a

separación y purificación.

Es esencial que el glucopéptido tenga un peso molecular de 3.000 a 30.000 para presentar el efecto de conferir un sabor kokumi de un primer sabor y de un sabor intermedio de la presente invención. La fracción que tiene un peso molecular de 3.000 a 30.000 que contiene el glucopéptido no está particularmente limitada con respecto al contenido para presentar un efecto de conferir un sabor kokumi en la materia prima del condimento o en el condimento, y puede ser una parte en el condimento o la obtenida al purificar la fracción. Sin embargo, cuando el contenido en el condimento es preferentemente de 1 ppm o más, más preferentemente 5 ppm o más, el efecto de conferir un sabor kokumi del condimento a un alimento o bebida resulta evidente.

La materia prima que contiene dicha proteína, no está especialmente limitada, siempre que un hidrolizado de la misma contenga el glucopéptido mencionado anteriormente y puede ser una materia prima de partida que contiene una proteína arbitraria. Se puede utilizar cualquier proteína, por ejemplo, una proteína vegetal, una proteína animal, una proteína procedente de células de levadura o similar. Los ejemplos de la proteína vegetal incluyen proteínas de semillas, tales como proteína de trigo, proteína de soja y proteína de maíz, y similares. Entre ellos, en particular, se observa un excelente efecto de mejorar un sabor kokumi en un glucopéptido obtenido a partir de proteína de trigo o proteína de soja.

Como enzima para utilizar en la hidrólisis de proteína según la presente invención, una enzima natural que se metaboliza con la utilización de un microorganismo o similares, o una preparación de enzima disponible en el mercado se puede utilizar siempre que pueda degradar mediante enzimas una proteína que debe ser una materia prima o una materia prima de partida que contiene dicha proteína. Con respecto a estas enzimas, se pueden usar apropiadamente un tipo o diversos tipos de enzimas. El pH puede ajustarse añadiendo un ácido o un álcali que está permitido utilizar en alimentos y bebidas. El tiempo de tratamiento cuando una proteína o una materia prima de partida que contiene una proteína se trata por la hidrólisis enzimática varía dependiendo de las condiciones relacionadas con la hidrólisis, tales como el tipo de enzima que debe utilizarse para la hidrólisis de la proteína, la cantidad de la enzima que debe utilizarse, la temperatura, el pH y similares. Cuando el tiempo de tratamiento es mucho mayor del necesario, se produce degradación innecesaria u oscurecimiento o similar, y puede tener un efecto desfavorable sobre la calidad en algunos casos, por lo tanto, es preferentemente de 10 a 100 horas. Un experto en la materia puede determinar fácilmente las condiciones de hidrólisis adecuadas para proporcionar una glucoproteína que tiene un peso molecular predeterminado según la presente invención mediante el muestreo apropiado del hidrolizado durante el tratamiento de hidrólisis y a continuación realizando análisis o similares.

El condimento que contiene un glucopéptido de la presente invención se puede obtener recogiendo una parte líquida de un hidrolizado de una proteína hidrolizada en un grado moderado con una enzima utilizando un procedimiento habitual, tal como filtración o centrifugación. Dicho condimento puede también utilizarse como un condimento purificado sometiendo a un tratamiento tal como decoloración, purificación o concentración, por ejemplo, un tratamiento de decoloración con la utilización de carbón activado, un ultrafiltración o similar, un tratamiento de separación y purificación con diversas técnicas cromatográficas o separación con membranas utilizando una membrana permeable o similar, o un tratamiento de concentración, tal como la concentración mediante membranas, la concentración al vacío o similar. Además, el condimento que contiene un glucopéptido de la presente invención se pueden preparar en forma de un condimento en polvo excelente en estabilidad al almacenamiento sin la adición de la sal de mesa o similar si se seca y se pulveriza por un procedimiento tal como secado por pulverización o secado por congelación al vacío.

Además, en el caso en que se desea obtener una fracción de alta pureza que tiene un peso molecular de 3.000 a 30.000 que contiene un glucopéptido de la presente invención, el aislamiento y la purificación se pueden realizar utilizando un método de tratamiento conocido de separación y purificación tal como ultrafiltración, membrana de ósmosis inversa, membrana de diálisis, HPLC en fase normal, HPLC de fase inversa, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de filtración en gel o cromatografía de afinidad del hidrolizado de proteínas mencionado anteriormente o del condimento que contiene glucopéptido mencionada anteriormente de la presente invención.

El condimento que contiene el glucopéptido de la presente invención tiene un efecto de conferir un sabor kokumi, en particular, un sabor kokumi de un primer sabor y de un sabor intermedio a un alimento o bebida y mejorar el sabor de todo el alimento o bebida en particular sin la adición de un condimento umami o similares a la comida o bebida.

Existe una variedad de alimentos tales como sopas, una variedad de alimentos procesados y similares con respecto a la comida en las que un efecto de mejorar un sabor, tal como un efecto de conferir un sabor kokumi se puede conseguir con el condimento que contiene el glucopéptido de la presente invención. Sin embargo, un efecto más notable se puede obtener en particular en un condimento fermentado, un alimento fermentado, un alimento o bebida utilizando el mismo y similares, y un sabor kokumi, en particular, un sabor kokumi de un primer sabor y de un sabor intermedio puede darse a estos alimentos.

Cuando el condimento que contiene glucopéptido de la presente invención se añade a un alimento, no hay restricción en ninguna propiedad física tal como un polvo seco, una pasta o una solución. Además, con respecto a la adición del mismo a un alimento o un condimento, cada vez que se añade a una materia prima, por ejemplo, antes

de la producción, durante la producción, después de la finalización, inmediatamente antes de la comida, durante la comida, etc., se puede obtener un efecto de conferir un sabor kokumi.

## Ejemplos

5

En lo sucesivo, la presente invención se describirá haciendo referencia a los ejemplos.

### **Ejemplo 1: Fraccionamiento de condimento que contiene una fracción que contiene glucopéptidos y confirmación del efecto de dar sabor kokumi**

10

Se añadieron 30 g de proteína de soja "ESUSAN PROTEIN F" (fabricada por J-Oil Mills Inc.) a 2 l de agua del grifo y se dispersaron en la misma, y la mezcla resultante se esterilizó calentando a 120°C durante 20 minutos, con lo que se preparó un líquido de dispersión de soja desgrasada. Un caldo de cultivo de *Aspergillus oryzae* precultivado en un medio de cultivo de antemano al mismo para proporcionar una concentración final de 1% (v/v) y el cultivo se llevó a cabo en un frasco fermentador a 30°C durante 36 horas. Se añadieron 500 g de gluten de trigo "SWP-5A" (fabricado por Amylum) a 2 l de agua del grifo y se dispersaron suficientemente en la misma, y la mezcla resultante se esterilizó por calentamiento a 120°C durante 20 minutos, con lo que se preparó un líquido de dispersión de gluten de trigo. A 2 l del líquido de dispersión preparado de gluten de trigo, se le añadieron 0,6 l del caldo de cultivo en soja desgrasada anterior de *Aspergillus oryzae* como una fuente de enzima, y la mezcla resultante se sometió a reacción de hidrólisis en un frasco fermentador manteniendo el frasco fermentador a 36°C durante 50 horas, mientras se agita con aireación. El líquido hidrolizado así obtenido se sometió a separación sólido-líquido utilizando un embudo de Nutsche, y a continuación se añadieron 60 g de carbón activado al filtrado. La mezcla resultante se calentó a 60°C durante 10 minutos para decolorar el filtrado. Se eliminó el carbón activado del líquido decolorado con un embudo de Nutsche, y el filtrado se secó con un liofilizador, con lo que se obtuvo un condimento en polvo de gluten de trigo degradado por enzimas.

25

El condimento de gluten de trigo degradado por enzimas en polvo se disolvió en agua, y la solución acuosa resultante se somete a ultrafiltración utilizando una membrana de ultrafiltro "YM30" (fabricada por MILLIPORE Corporation). A continuación, el líquido recogido se volvió a someter a ultrafiltración utilizando una membrana de ultrafiltro "YM1" (fabricada por MILLIPORE Corporation), con lo que se obtuvo una fracción que tiene un peso molecular de 1.000 a 30.000. Además, la fracción obtenida se volvió a someter a ultrafiltración utilizando una membrana de ultrafiltro "YM3" (fabricada por MILLIPORE Corporation), con lo que se fraccionó una fracción que tiene un peso molecular de 3.000 a 30.000.

30

Las fracciones obtenidas de este modo se sometieron a un análisis por el método HPLC (utilizando un detector de fluorescencia) basado en un método de modificación en precolumna. Para separar la cadena de azúcar del péptido, se llevó a cabo un tratamiento enzimático con una enzima, glucopeptidasa A (preparada por Seikagaku Kogyo Co., Ltd.) durante 16 horas escindiendo de ese modo el enlace entre la cadena de azúcar y el péptido. A continuación, la cadena de azúcar liberado se modificó por fluorescencia con 2-aminopiridina y se sometió a un análisis por HPLC utilizando un detector de fluorescencia, y se confirmó que la cadena de azúcar está contenida en las fracciones anteriores (bibliografía de referencia para las condiciones de modificación y análisis: *Agric. Biol. Chem.*, 54 (8), 2169-2170, 1990).

35

40

Con el fin de confirmar la función de conferir un sabor kokumi de las fracciones que contienen glucopéptido, cada una de las dos fracciones obtenidas se añadió a un extracto de carne de vaca disponible en el mercado (preparado por Bordon) de tal manera que la concentración de las mismas en la comida se convierte en 0,1 ppm a 100 ppm. Utilizando un extracto de carne sin adición de las mismas como referencia, se llevó a cabo la evaluación organoléptica por 15 panelistas de sabor. Los resultados se muestran en la siguiente Tabla 1.

45

50

Por lo demás, los significados de los símbolos en la Tabla 1 son los siguientes: X: no superior a la de referencia; Δ: el mismo que el de referencia; O: un sabor kokumi de un primer sabor y de un sabor intermedio es más fuerte que el de referencia; y OO: un sabor kokumi de un primer sabor y de un sabor intermedio es aparentemente más fuerte que el referencia.

Tabla 1

Peso molecular: 1.000 a 30.000 \*

	Fracción que contiene glucopéptido
0,1 ppm	x
0,5 ppm	Δ
1 ppm	O
5 ppm	OO
10 ppm	OO
50 ppm	OO
100 ppm	OO

Peso molecular: 3.000 a 30.000

	Fracción que contiene glucopéptido
0,1 ppm	Δ
0,5 ppm	O
1 ppm	OO
5 ppm	OO
10 ppm	OO
50 ppm	OO
100 ppm	OO

\* que no pertenecen al alcance de la presente invención

- 5 Como se desprende de la tabla anterior, se observa que un efecto de conferir un sabor kokumi es evidente a 1 ppm o más, y que el efecto es más preferido en la fracción que tiene un peso molecular de 3.000 a 30.000 que la fracción que tiene un peso molecular de 1.000 a 30.000.

10 **Ejemplo 2: Comparación de funciones entre la fracción que contiene glucopéptido de la presente invención y un glucopéptido conocido (Referencia solamente)**

15 Para confirmar la diferencia en el efecto de conferir un sabor kokumi entre la fracción que contiene glucopéptido que tiene un peso molecular de 1.000 a 30.000 obtenido en el Ejemplo 1 y un glucopéptido que tiene una estructura representada por la fórmula de secuencia (II) siguiente dada a conocer en el documento WO 2004/096836, cada una de las sustancias se añadió a un extracto de carne de vaca disponible en el mercado (preparado por Bordon) de tal manera que la concentración del mismo se convierte en 1 ppm. Utilizando un extracto de carne de vaca sin adición de las mismas como referencia, se llevó a cabo la evaluación organoléptica por 16 panelistas de sabor. Con respecto a los puntos de evaluación, la evaluación se llevó a cabo desde el punto de vista de la sensación de un sabor kokumi en un primer sabor, de un sabor intermedio o un regusto. Un sabor a kokumi sentido en 2 segundos, 4 segundos y 6 segundos después de poner una solución de cata en la boca se determinó que era un sabor a kokumi de un primer sabor, de un sabor a kokumi de un sabor intermedio, y un sabor a kokumi de un regusto, respectivamente. Los resultados se muestran en la siguiente Tabla 2.

25 Fórmula de secuencia (II)

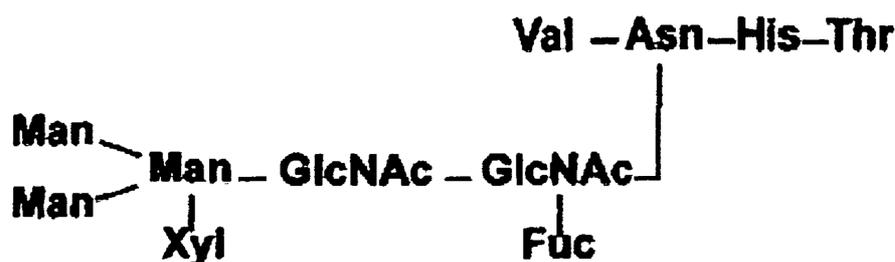


Tabla 2

	Sabor a kokumi de un primer sabor		Sabor a kokumi de un sabor intermedio		Sabor a kokumi de regusto	
	Glucopéptido	Presente invención	Glucopéptido	Presente invención	Glucopéptido	Presente invención
Sabor a kokumi es más fuerte	0	16***	6	10	15***	1

(\*\*\*: Nivel de significación de 0,1%, \*\*: Nivel de significación de 1%, \*: Nivel de significación de 5%)

A partir de la tabla anterior, se observa que la presente invención tiene un efecto de conferir un sabor kokumi de un primer sabor y de un sabor intermedio, que es diferente al del documento WO 2004/096836 que tiene un efecto de

conferir un sabor kokumi de un regusto.

**Ejemplo 3: Comparación de funciones entre presencia y ausencia de la fracción que contiene glucopéptido (la presente invención)**

5 Dos tipos disponibles en el mercado de condimentos (A y B) hidrolizados de proteínas vegetales se fraccionaron por el mismo método de fraccionamiento que en el Ejemplo 1 (se confirmó que una cadena de azúcar no está contenida en los condimentos disponibles en el mercado) y a continuación, se añadió cada uno de ellos a un extracto de carne de vaca para proporcionar una concentración final de 1 ppm o 5 ppm de la misma manera que en el Ejemplo 1. A 10 continuación, se llevó a cabo la evaluación organoléptica por 20 panelistas de sabor por la prueba de parejas desde el punto de vista de un efecto de conferir un sabor kokumi en un primer sabor y un sabor intermedio de la misma manera que en el Ejemplo 2. Los resultados se muestran en la siguiente Tabla 3.

Tabla 3

15 Adición a 1 ppm

	Condimento A disponible en el mercado	Presente invención	Condimento B disponible en el mercado	Presente invención
Sabor a kokumi es más fuerte	3	17**	2	18***

Adición a 5 ppm

	Condimento A disponible en el mercado	Presente invención	Condimento B disponible en el mercado	Presente invención
Sabor a kokumi es más fuerte	1	19**	1	19***

(\*\*\*: Nivel de significación de 0,1%, \*\*: Nivel de significación de 1%, \*: Nivel de significación de 5%)

20 A partir de la tabla anterior, se observa que la presencia de la fracción que contiene la cadena de azúcar es importante para la expresión de un sabor kokumi de un primer sabor y de un sabor intermedio.

**Ejemplo 4: Efecto de dar sabor kokumi a sopa de consomé (Referencia solamente)**

25 Para verificar el efecto de mejorar el sabor de una sopa de consomé (una solución al 2%) de la misma manera que en la evaluación organoléptica en el Ejemplo 1, una fracción que contiene glucopéptido que tiene un peso molecular de 1.000 a 30.000 obtenido por el método del Ejemplo 1 se añadió a una sopa de consomé disponible en el mercado (preparada por Ajinomoto Co., Inc.) para proporcionar una concentración final de 10 ppm o 50 ppm. Utilizando una 30 sopa de consomé sin adición de la misma como referencia, se llevó a cabo la evaluación organoléptica por 16 panelistas de sabor mediante la prueba por parejas. Los resultados se muestran en la siguiente Tabla 4.

Tabla 4

35 Adición a 10 ppm

	Sin adición	Adición de fracción que contiene glucopéptido
Sabor a kokumi es más fuerte	2	14**
Comentario		Se da un sabor kokumi de un primer sabor y un sabor intermedio para proporcionar un sabor rico

Adición a 50 ppm

	Sin adición	Adición de fracción que contiene glucopéptido
Sabor a kokumi es más fuerte	1	15**
Comentario		Se da un sabor kokumi de un primer sabor y un sabor intermedio para proporcionar un sabor rico

(\*\*\*: Nivel de significación de 0,1%, \*\*: Nivel de significación de 1%, \*: Nivel de significación de 5%)

5 A partir de la tabla anterior, se observa que la presente invención tiene un efecto notable de conferir un sabor kokumi de un primer sabor y de un sabor intermedio a un alimento.

**Ejemplo 5: Efecto de dar sabor kokumi a un extracto de caldo de pescado dashi (caldo) preparado en casa**

10 Para verificar el efecto de mejorar el sabor de un extracto de caldo de pescado dashi (caldo) preparado en casa de la misma manera que la evaluación organoléptica en el Ejemplo 1, una fracción que contiene glucopéptido que tiene un peso molecular de 3.000 a 30.000 obtenida por el método del Ejemplo 1 se añadió a un extracto de caldo de pescado dashi (caldo) preparado en casa preparado por el método de preparación mostrado en la siguiente Tabla 5 para dar una concentración final de 1 ppm o 5 ppm. Utilizando un extracto de caldo de pescado dashi (caldo) 15 preparado en casa sin adición de la misma como referencia, la evaluación organoléptica se llevó a cabo por 16 panelistas de sabor mediante la prueba por parejas. Los resultados se muestran en la siguiente Tabla 6.

Tabla 5: Procedimiento de preparación de un extracto de caldo de pescado dashi (caldo)

20 Dashi de katsuo (bonito) natural al 5% (Atzu Kezuri (rodajas más gruesas de bonito seco))	Dashi de katsuo (bonito) natural al 5% (Hana Katsuo (copos de bonito seco))
<Procedimiento de preparación> Se añade 5% en peso de Hon katsuo Atzu Kezuri W.I. (disponible en Igarashi Katsuobushi-ten) a agua hirviendo ↓ Se realiza la extracción de dashi durante 45 minutos mientras se hierva la mezcla ligeramente ↓ Se coloca una toallita de papel en un colador y se vierte el líquido de extracción a través del colador. ↓ Se ajusta el contenido en agua para obtener un rendimiento del 100%.	<Procedimiento de preparación> Se añade 5% en peso de Hana Katsuo Aka (disponible en Igarashi Katsuobushi-ten) a agua hirviendo ↓ después de añadir los copos de bonito, apagar el hornillo, y dejar la mezcla en reposo hasta que los copos de bonito bajen al fondo ↓ Se coloca una toallita de papel en un colador y se vierte el líquido de extracción a través del colador. ↓ Se ajusta el contenido en agua para obtener un rendimiento del 100%.

25 Los caldos de dashi mencionados anteriormente se mezclan de tal manera que la relación de Atsu kezuri dashi a Hana Katsuo dashi es 70% a 30%.

Tabla 6

Adición a 1 ppm

	Sin adición	Adición de fracción que contiene glucopéptido
Sabor a kokumi es más fuerte	3	13**
Comentario		Se da un sabor kokumi de un primer sabor y un sabor intermedio.

Adición a 5 ppm

	Sin adición	Adición de fracción que contiene glucopéptido
Sabor a kokumi es más fuerte	2	14**
Comentario		Se da un sabor kokumi de un primer sabor y un sabor intermedio.

(\*\*\*: Nivel de significación de 0,1%, \*\*: Nivel de significación de 1%, \*: Nivel de significación de 5%)

35 De la tabla anterior, se observa que la presente invención tiene un efecto notable de conferir un sabor kokumi de un primer sabor y de un sabor intermedio a un alimento.

**Ejemplo 6: Fraccionamiento de condimento que contiene una fracción que contiene glucopéptidos (procedentes de la soja) y confirmación del efecto de dar sabor kokumi**

Se colocaron 60 kg de soja desgrasada expandida y 47 kg de un caldo de cultivo de *L. lactis* AJ110212 (FERM BP-8552) (pH 6,3) en un mezclador ("mazelar" (fabricado por Sangyo Kikai Co. Ltd.)), y se mezcló suficientemente. A continuación, las esporas de *A. sojae* AJ117552 (FERM P-19637) se añadieron a razón de  $2 \times 10^6$  esporas/g de materia prima y se mezcló. La mezcla resultante se colocó en un aparato que produce ventilación koji, y se cultivó durante 45 horas mientras se mantenía la temperatura de la mezcla de 30 a 32°C. A continuación, 40 kg del koji obtenido y 108 kg de una solución salina con una concentración de sal de 15,6% en peso se pusieron en un tanque con un encamisado. Como sal, se utilizó "Nakuru M" (fabricada por Naikai Sal Industries Co., Ltd.). Moromi se calentó mediante la circulación de agua caliente en la parte del encamisado, y la fermentación se realizó a 35°C durante 14 días. Además, la mezcla se mezcló una vez al día durante la fermentación, por lo que la flotación de koji en la zona superior se dispersó uniformemente. Una vez terminada la fermentación, el residuo se separó con una filtro de tela, con lo que se obtuvo la Namaage. A 1 l de la Namaage resultante, se añadieron 40 g de sal de mesa y 20 g de alcohol al 95% (fabricado por Japan Alcohol Corporation), y a continuación el pH de Namaage se ajustó a 4,5 con ácido clorhídrico 6 N. A 200 g de Namaage después del ajuste del pH, se le añadieron 0,04 g de carbón activado "carbón SD-V6" (fabricado por Ajinomoto Fine-Techno Co., Inc.) (a 0,02% con relación a Namaage), y la mezcla se incubó a 30°C durante 120 minutos. A continuación, el pH de la mezcla se ajustó a 5,1 con NaOH al 40%, y la filtración se llevó a cabo dos veces a través de un papel de filtro del "nº 2" y, a continuación, de un papel de filtro del "nº 5C" (fabricado por Advantec) para eliminar el carbón activado. Posteriormente, la Namaage transparente obtenida se calentó a 80°C durante 30 minutos, y después se dejó a 60°C durante 24 horas para favorecer la coagulación de sedimentos. Por último, se realizó la centrifugación para obtener un sobrenadante, y el sobrenadante se filtró (0,45 µm, Chromatodisk (fabricado por Kurabo Industries Ltd.)), con lo que se obtuvo un condimento de proteína de soja transparente, desgrasada degradada con enzimas.

El condimento de proteína de soja transparente, desgrasada degradada con enzimas obtenido de este modo se sometió a ultrafiltración por el mismo método que en el Ejemplo 1, y las fracciones que tienen un peso molecular de 1.000 a 30.000 y un peso molecular de 3.000 a 30.000 se fraccionaron. Se confirmó que las fracciones obtenidas contienen una cadena de azúcar por el método de HPLC descrito en el Ejemplo 1.

Para confirmar una función de conferir un sabor kokumi de la fracción que contiene glucopéptido procedente de la proteína de soja, 15 panelistas de sabor realizaron la evaluación organoléptica por un método de evaluación utilizando un extracto de carne de la misma manera que en el Ejemplo 1. Los resultados se muestran en la Tabla 7.

Por lo demás, los significados de los símbolos en la Tabla 7 son los siguientes: X: no superior a la de referencia; Δ: el mismo que el de referencia; O: un sabor kokumi de un primer sabor y de un sabor intermedio es más fuerte que el de referencia; y OO: un sabor kokumi de un primer sabor y de un sabor intermedio es aparentemente más fuerte que el referencia.

Tabla 7

Peso molecular: 1.000 a 30.000 \*

	Fracción que contiene glucopéptido
0,1 ppm	x
0,5 ppm	Δ
1 ppm	O
5 ppm	OO
10 ppm	OO
50 ppm	OO
100 ppm	OO

Peso molecular: 3.000 a 30.000

	Fracción que contiene glucopéptido
0,1 ppm	Δ
0,5 ppm	O
1 ppm	OO
5 ppm	OO
10 ppm	OO
50 ppm	OO
100 ppm	OO

\* que no pertenecen al alcance de la presente invención

Como se desprende de la tabla anterior, se observa que un efecto de conferir un sabor kokumi es evidente a 1 ppm o más, y que el efecto se prefiere más en la fracción que tiene un peso molecular de 3.000 a 30.000 que la fracción que tiene un peso molecular de 1.000 a 30.000.

**Aplicabilidad industrial**

Según la presente invención, puede proporcionarse un condimento que puede utilizarse más ampliamente en

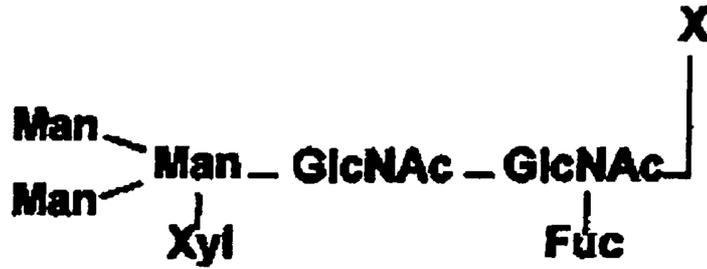
alimentos y bebidas y que presenta un potente efecto de mejorar los sabores de las comidas y bebidas, pudiendo por ello conferir un sabor kokumi, en particular, un sabor kokumi de un primer sabor y de un sabor intermedio.

**REIVINDICACIONES**

1. Condimento que presenta una función de conferir un sabor kokumi, caracterizado porque comprende como principio activo, un glucopéptido que se compone de una cadena de azúcar y un péptido unidos entre sí,

5 en el que el glucopéptido presenta una estructura representada por la fórmula de secuencia (I) siguiente y presenta un peso molecular entre 3.000 y 30.000:

fórmula de secuencia (I)



en la que Man representa un resto de manosa, Xyl representa un resto de xilosa, GlcNAc representa un resto de N-acetilglucosamina, Fuc representa un resto de fucosa, y X representa un resto de péptido.

15 2. Condimento que tiene una función de conferir un sabor kokumi según la reivindicación 1, caracterizado porque el glucopéptido está en forma de un hidrolizado de una proteína vegetal por un moho koji.

3. Condimento que presenta una función de conferir un sabor kokumi según la reivindicación 1 o 2, caracterizado porque el glucopéptido está en forma de un hidrolizado de gluten de trigo o soja desgrasada por una enzima.

20 4. Comida o bebida, caracterizada por estar condimentada con el condimento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.